

Obsah

Úvod	5
1. ZÁSADY PRÁCE V MIKROBIOLOGICKÉ LABORATOŘI	6
Bezpečnost a zdraví při práci v mikrobiologické laboratoři	6
Vybavení mikrobiologické laboratoře	6
Principy práce v mikrobiologické laboratoři	7
Infekční materiál v praxi	7
2. KULTIVAČNÍ TECHNIKY VE VIROLOGII	8
Téma 1. Práce s buněčnou kulturou	8
Úkol 1. Pasážování buněk	9
Úkol 2. Počítání buněk v Bürkerově komůrce	10
Úkol 3. Kultivace buněk v 96-jamkovém panelu	11
Úkol 4. Kvantifikace CPE	12
Téma 2. Stanovení titru viru	14
Úkol 1. Stanovení virového titru plakovou titrací	14
Úkol 2. Stanovení virového titru jako TCID ₅₀ /mL	17
Téma 3. Stanovení citlivosti viru na antivirotika	20
Úkol 1. Stanovení citlivosti klíšťaty přenášeného flaviviru na antivirotika	20
Úkol 2. Stanovení toxicity testovaných antivirotik	23
Téma 2. Studium rezistence viru na antivirotikum	24
Úkol 1. Experimentální ověření rezistence viru na nukleosidové antivirotikum	24
Úkol 2. Bioinformatická analýza mutací v sekvenci virové genomové RNA	25
3. KULTIVAČNÍ METODY V BAKTERIOLOGII A TESTOVÁNÍ CITLIVOSTI NA ANTIBIOTIKA	27
Téma 1. Očkování a kultivace bakterií na půdách	29
Úkol 1. Očkování na pevných půdách (agarech) v Petriho misce	29
Úkol 2. Kultivace bakterií na různých typech půd	30
Úkol 3. Barvení podle Grama	30
Téma 2. Stanovení minimální inhibiční koncentrace (MIC) antibiotik pro bakterie <i>Escherichia coli</i> a <i>Staphylococcus epidermidis</i>	31
Úkol 1. Příprava bakteriální suspenze	32
Úkol 2. Příprava antibiotik a jejich inkubace s bakteriemi	32
Úkol 3. Stanovení MIC na 96-jamkové destičce	34
Úkol 4. Stanovení MIC na agarové plotně	34
4. IMUNOLOGICKÉ DIAGNOSTICKÉ METODY V MIKROBIOLOGII	36
Téma 1. Imunofluorescenční barvení	36
Úkol 1. Vizualizace virového antigenu pomocí fluorescenčního barvení	37
Téma 2. ELISA pro stanovení virus-specifických protilátek	40
Úkol 1. Stanovení IgG protilátek proti viru klíšťové encefalitidy / proti SARS-CoV-2	42
Úkol 1A. Detekce IgG protilátek pomocí Anti-SARS-CoV-2 QuantiVac ELISA (IgG) (Euroimmun)	44
Úkol 1B: Detekce IgG protilátek pomocí Anti-TBE Virus ELISA 2.0 (IgG) (Euroimmun)	46
Téma 3. Rychlý imunologický test na přítomnost protilátek proti SARS-CoV-2	49
Úkol 1. Stanovení protilátek proti SARS-CoV-2 rychlým imunologickým testem	50

Téma 4. Virus-neutralizační test	52
Úkol 1. Stanovení neutralizačních protilátek proti klíšťaty přenášenému flaviviru	52
Téma 5. Hemaglutinační a hemaglutinačně-inhibiční test	54
Úkol 1: Hemaglutinační test s klíšťaty přenášeným flavivirem.....	55
Úkol 2: Hemaglutinačně-inhibiční test s protilátkami proti klíšťaty přenášeným flavivirům	55
Téma 6. Stanovení protilátek třídy IgM a IgG proti boréliím pomocí imunoblotu	57
Úkol 1. Stanovení protilátek třídy IgM proti boréliím pomocí kitu Anti-Borrelia EUROLINE-RN-AT (IgM) (Euroimmun)	57
Úkol 2. Stanovení protilátek třídy IgG proti boréliím pomocí kitu Anti-Borrelia EUROLINE-RN-AT (IgG) (Euroimmun)	61
5. MOLEKULÁRNĚ – BIOLOGICKÉ DIAGNOSTICKÉ METODY V MIKROBIOLOGII	66
Téma 1. PCR pro průkaz viru klíšťové encefalitidy ve vzorcích klíšťat.....	66
Úkol 1. Izolace RNA viru klíšťové encefalitidy z klíšťat	67
Úkol 2. Vlastní PCR pro průkaz virové RNA	69
Úkol 3. Elektroforéza PCR produktů, jejich monitorování a extrakce z gelu.....	71
Úkol 4. Určení přítomnosti RNA viru klíšťové encefalitidy pomocí kvantitativní reverzně-transkripční PCR	72
Téma 2. Vyšetření na SARS-CoV-2 pomocí kvantitativní reverzně-transkripční PCR .	75
Úkol 1. Izolace virové RNA.....	75
Úkol 2. RT-qPCR	76
Téma 3. Práce s virovým reportérovým systémem	80
Úkol 1. Využití reportérového virového systému pro virus-neutralizační test	81
6. PRÁCE S LABORATORNÍM ZVÍŘETEM	85
Téma 1. Manipulace s experimentálním zvířetem	86
Úkol 1. Celková anestezie laboratorní myši a experimentální infekce	86
Úkol 2. Odběr vzorku krve z ocasní žíly, vykrvení zvířete a odběr orgánů.....	87
7. PŘÍPRAVA RŮSTOVÝCH MÉDIÍ, ROZTOKŮ, BARVIV A DALŠÍCH REAGENTŮ POUŽÍVANÝCH V PRAKTIKU	89
8. DOPORUČENÁ LITERATURA K DALŠÍMU STUDIU.....	91